

尿酸酶活性检测试剂盒（可见分光光度法）

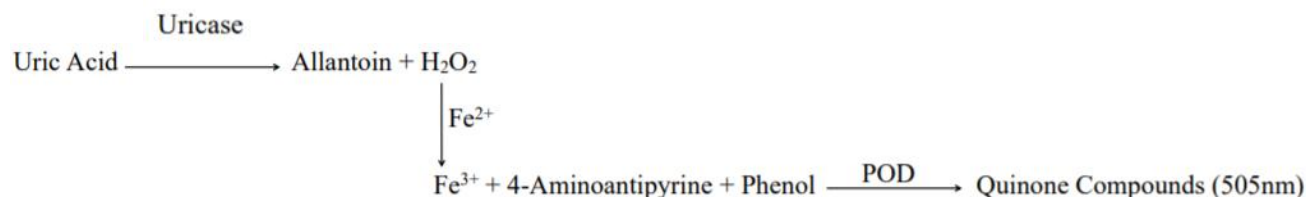
产品货号：BA1863

产品规格：50管/24样

产品简介：

尿酸酶，又名尿酸氧化酶，是一种参与嘌呤降解途径的氧化酶，可以将尿酸分解为尿囊素进而排出体外。尿酸为嘌呤代谢的终末产物，积累过多将导致痛风、肾病、心血管疾病等多种疾病的发生。尿酸酶在尿酸相关疾病的临床检测以及治疗中有着重要意义。

尿酸酶催化尿酸分解为尿囊素、CO₂和H₂O₂，H₂O₂氧化亚铁氰化钾中的Fe²⁺生成Fe³⁺，Fe³⁺进一步与4-氨基安替比林和酚反应生成红色醌类化合物，在505nm处有特征吸收峰，通过测定505nm处的吸光值来反映尿酸酶的活性。



注意：实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

产品组成：

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体30mL×1瓶	2-8℃
试剂一	液体135mL×1瓶	2-8℃
试剂二	粉剂×2瓶	2-8℃
试剂三	粉剂×1瓶	2-8℃
试剂四	粉剂×1瓶	2-8℃
试剂五	粉剂×1瓶	-20℃
试剂六	液体12mL×1瓶	2-8℃
标准品	液体102μL×1支	2-8℃

溶液的配制：

1. 试剂二：临用前取1瓶加入6mL试剂一，充分混匀后备用；用不完的试剂2-8℃保存1周。
2. 试剂三：临用前加入12mL试剂一，充分混匀后备用；用不完的试剂2-8℃保存4周。
3. 试剂四：临用前加入36mL试剂一，充分混匀后备用；用不完的试剂2-8℃保存4周。
4. 试剂五：临用前加入50mL试剂一，充分混匀后备用；用不完的试剂-20℃分装保存4周，避免反复冻融。
5. 标准品：临用前加入898μL蒸馏水得到1mmol/mL的过氧化氢溶液，2-8℃保存4周。
6. 工作液A的配制：用于样本测定管、空白管及标准管的检测，按照试剂二:试剂三:试剂四:试剂五:试剂六= 1:1:1:1:2的比例配制，根据样本量现配现用，配后建议2小时内用完。
7. 工作液B的配制：用于样本对照管的检测，按照试剂二:试剂三:试剂四:试剂五:试剂一= 1:1:1:1:2的比例配制，根据样本量现配现用，配后建议2小时内用完。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计、低温离心机、水浴锅/恒温培养箱、1mL玻璃比色皿、可调式移液枪、超声破碎仪、研钵/匀浆器、冰、EP管、蒸馏水。

操作步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可参考文献）

1. 组织：按照组织质量（g）：提取液体积(mL)为1：5~10的比例（建议称取约0.1g组织，加入1mL提取液）进行冰浴匀



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

浆，然后10000rpm，4℃，离心10min，取上清置于冰上待测。

- 细菌或细胞：先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；按照细菌或细胞数量（ 10^4 个）:提取液体积（mL）为500~1000:1的比例（建议500万个细菌或细胞加入1mL提取液），冰浴超声波破碎细菌或细胞（功率200W,超声3s，间隔7s，总时间5min）；然后10000rpm，4℃，离心10min，取上清置于冰上待测。

二、测定步骤

- 分光光度计预热30min以上，调节波长至505nm，蒸馏水调零。
- 将1mmol/mL标准液用蒸馏水稀释为0.25μmol/mL的标准溶液备用。标准溶液的稀释：取20μL 1mmol/mL过氧化氢标准液，加入1980μL蒸馏水，充分混匀，配制成10μmol/mL标准液，再取50μL 10μmol/mL过氧化氢标准液，加入1950μL蒸馏水，充分混匀，配制成0.25μmol/mL标准液使用，现用现配。（实验中每管需要150μL，为减小实验误差，故配制大体积）。
- 操作表：(在1.5mL离心管中)：

试剂名称（μL）	对照管	测定管	标准管	空白管
样本	150	150	-	-
标准溶液	-	-	150	-
蒸馏水	-	-	-	150
工作液 A	-	850	850	850
工作液 B	850	-	-	-

混匀，37℃（哺乳动物）或 25℃（其他物种）恒温培养箱中准确反应 30min。于 1mL 玻璃比色皿，测定 505nm 处吸光值 A，分别记为 A 对照管、A 测定管、A 标准管、A 空白管。计算 $\Delta A_{测定} = A_{测定管} - A_{对照管}$ ， $\Delta A_{标准} = A_{标准管} - A_{空白管}$ 。每个测定管需设一个对照管，标准管和空白管只需测 1-2 次。

三、尿酸酶活性计算

（1）按样本质量计算

酶活定义：在 pH8.8 的条件下，每克样本每小时分解尿酸产生 1μmol 的 H₂O₂ 定义为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{尿酸酶酶活 (U/g 质量)} &= \Delta A_{测定} \div (\Delta A_{标准} \div C_{标准}) \times V_{样本} \div (W \times V_{样本} \div V_{提取}) \div T \\ &= 0.5 \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \div W \end{aligned}$$

（2）按蛋白浓度计算

酶活定义：在 pH8.8 的条件下，每毫克蛋白每小时分解尿酸产生 1μmol 的 H₂O₂ 定义为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{尿酸酶酶活 (U/mg prot)} &= \Delta A_{测定} \div (\Delta A_{标准} \div C_{标准}) \times V_{样本} \div (C_{pr} \times V_{样本}) \div T \\ &= 0.5 \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \div C_{pr} \end{aligned}$$

（3）按照细菌或细胞数量计算

酶活定义：在 pH8.8 的条件下，每 10^4 个细菌或细胞每小时分解尿酸产生 1μmol 的 H₂O₂ 定义为一个酶活力单位。

$$\text{尿酸酶酶活 (U/10}^4\text{cell)} = \Delta A_{测定} \div (\Delta A_{标准} \div C_{标准}) \times V_{样本} \div (\text{细菌数量(万个)} \times V_{样本} \div V_{提取}) \div T = 0.5 \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \div \text{细菌数量 (万个)}$$

C 标准：标准溶液浓度，0.25μmol/mL；V 样本：加入的样本体积，0.15mL；V 提取：提取液体积，1mL；T：酶促反应时间：0.5h；C_{pr}：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g。

注意事项：

- A 大于 1 时，建议将样本用提取液稀释后再进行测定，并在计算时乘以相应的稀释倍数。
- 工作液 A 与工作液 B，需根据样本量现配现用，配后建议 2 小时内用完。工作液本身为淡黄色，随着时间的延长，会由淡黄色变为粉色、红色甚至酒红色，如有变色，则视为失效，需重新配置。

实验实例：

- 取 0.1g 小鼠肝脏进行样本处理，取上清稀释 8 倍后按测定步骤操作，测定计算 $\Delta A_{测定} = A_{测定管} - A_{对照管} = 0.652 - 0.218 = 0.434$ ， $\Delta A_{标准} = A_{标准管} - A_{空白管} = 0.614 - 0.017 = 0.597$ ，按样本质量计算酶活得：
尿酸酶酶活 (U/g 质量) = $0.5 \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \div W \times 8$ （稀释倍数）= 29.08 U/g 质量。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com